No 33. R. Brun et H. R. Kobel. — Des grenouilles métamorphosées obtenues par transplantation nucléaire à partir du prosencéphale et de l'épiderme larvaire de *Xenopus laevis* [1].

Station de Zoologie Expérimentale et Laboratoire de Génétique animale et végétale. Université de Genève, 154, route de Malagnou, 1224 Chêne-Bougeries

Nous remercions vivement M. le professeur M. FISCHBERG pour les conseils t critiques qu'il a bien voulu nous exprimer au cours de la réalisation du présent ravail.

Nous remercions également Mlle C. LOUMONT et M. J. BOURNE pour leur xcellente aide.

INTRODUCTION

La technique de transplantation nucléaire, appliquée à différentes espèces de batraciens a montré qu'une blastula contient encore beaucoup de cellules dont les noyaux sont totipotentiels après transfert dans le cytoplasme d'un œuf énucléé de la même espèce. Plus le développement de l'embryon donneur est avancé, plus il est difficile de trouver un noyau capable de donner un développement normal. L'embryogenèse d'un tel zygote artificiel est souvent anormal ou s'arrête à des stades précoces tels que blastula ou jeune gastrula.

Le travail de GURDON 1962 a toutefois montré que des cellules à noyaux totipotentiels sont présentes dans l'épithélium de l'intestin de têtards qui commencent à se nourrir. En prenant les cellules de cet épithélium, GURDON et ÜHLINGER 1966 ont obtenu des grenouilles fertiles.

Nous nous sommes demandés s'il était également possible de trouver des cellules à noyaux totipotents dans d'autres tissus larvaires ou si celles-ci n'étaient présentes que dans la population choisie par GURDON et ÜHLINGER 1966. A cet effet nous avons testé le prosencéphale de neurulae avancée (stade 22, NIEUWKOOP et FABER 1967) et l'épiderme au stade de l'éclosion (stade 36/42).

---

[1] Travail exécuté avec l'aide du Fonds national suisse de la recherche scientifique. no 3.60.68.

Matériel et Méthodes

Pour la technique de transplantation nous avons suivi les indications de Elsdale et al. 1960. La dissociation des tissus a été effectuée dans la solution de Barth et Barth 1959. Pour contrôler l'efficacité de l'irradiation, nous avons utilisé le marqueur trouvé par Elsdale et al. 1958 de façon identique à celle de Gurdon et al. 1958. Nous employons le terme de *premier transfert* pour la transplantation de cellules provenant directement du donneur et le terme de *transplantation en série* pour la transplantation de cellules des blastulae issues elles-mêmes d'un transfert.

Résultats

Comme le tableau l'indique, nous avons obtenu des grenouilles adultes avec les deux types de donneurs utilisés. Les trois grenouilles, issues toutes de la même cellule épidermique, sont fertiles.

Noyaux testés par premier transfert et transpl. en série

Donneurs	Nombre de Donneurs	Nombre de Transpl.	Stade atteint			Dévelop. Maximal
			Blast.	Gast.	Neur.	
prosencéph. stade 22						
1er transfert	5	187	11	0	0	blast.
tr. en série	6	670	111	66	56	grenouille adulte
Epiderme std. 36/42						
1er transfert	11	440	8	2	0	gastr.
tr. en série	7	577	79	22	19	grenouille adulte

Discussion

L'occurence dans divers tissus (prosencéphalon, épidermis, intestin) de cellules somatiques à noyaux totipotentiels, même aux stades avancés de l'embryogenèse, peut être interprété de différentes manières. En considérant l'idée de

WEISMANN (1885) selon laquelle la différentiation cellulaire serait due à une distribution différentielle du matériel génétique que seul la lignée germinale posséderait dans son intégrité, les cellules dont le noyau est pleinement capable de remplacer le noyau du zygote après transplantation doit être qualifiée de cellules non différenciées. Cette hypothèse est soutenue par le fait que l'on trouve un contenu différent en chromatine entre les cellules somatiques et les cellules germinales chez *Ascaris* (BOVERI, 1887) et chez les *Cecidomyidae* (GEYER-DUSZYNSKA 1959, BANTOCK 1961, 1970) qui semble montrer l'existence d'une telle relation entres les différences quantitatives et qualitatives (TOBLER, 1972) de matériel héréditaire et la différentiation cellulaire. L'élimination de chromatine crée une différence entre les cellules somatiques et les cellules germinales au niveau de l'ADN, mais les deux lignées se différencient ensuite sans que d'autres éliminations de ce genre interviennent, montrant que cette élimination chromatique ne peut être qualifiée de mécanisme général de différentiation.

Les travaux de LOEB 1894, de DRIESCH 1891 et surtout celui de SPEMANN 1928 ont montré la totipotentialité des noyaux jusqu'au stade de 8 à 16 cellules. BRIGGS et KING (1952) et FISCHBERG et al. (1958) à l'aide de transplantations nucléaires, ont repris le problème pour les stades plus avancés. Chez *Rana pipiens* comme chez *Xenopus laevis* la chance d'obtenir des têtards normaux par transplantation nucléaire décline rapidement en utilisant comme donneurs des cellules de stades gastrula-neurula. Ces auteurs ont interprété ces résultats comme une perte d'information génétique due à la différentiation tout en admettant la possibilité, d'attribuer cette diminution de totipotentialité à l'activité mitotique des cellules utilisées (BRIGGS and KING 1952, 1957). Cette dernière interprétation tient compte du changement de l'activité mitotique pendant le développement de l'embryon qui réduirait ainsi la chance de trouver un noyau qui serait dans une phase du cycle cellulaire adéquate, lui permettant d'entrer en mitose dans un délai relativement court après sa transplantation.

Ces deux interprétations ne s'excluent à notre avis pas mutuellement. En effet, des cellules génétiquement totipotentes comme par exemple les spermatogonies (SMITH, 1965, DI BERARDINO et HOFFNER, 1971) peuvent être dans une phase qui ne se prête pas à la transplantation. Par contre, il se pourrait que des noyaux de cellules différenciées se trouvent dans une phase favorable à la transplantation notamment pour initier le développement, sans toutefois être capable de prendre part à une embryogenèse normale. Une troisième interprétation qui s'applique aux résultats de GURDON 1962 et GURDON et ÜHLINGER 1966 fut donnée par DI BERARDINO et KING 1967, selon laquelle le succès total serait dû à la chance de transplanter une cellule germinale, lesquelles peuvent se trouver encore dans la population de cellules endodermiques utilisées par GURDON et ÜHLINGER 1966. Etant donné que nous avons reçu des grenouilles adultes à partir du prosencéphale et de l'épiderme larvaire, cette interprétation peut être exclue.

Pour savoir si oui ou non un noyau d'une cellule différenciée peut encoı diriger une embryogenèse normale en coopération avec le cytoplasme de l'œu il faut utiliser un type de cellule dont on connaît non seulement l'état de di férentiation (p. ex. mélanophores: KOBEL, BRUN et FISCHBERG. En préparation mais aussi la phase du cycle cellulaire dans laquelle elle se trouve au moment de l transplantation nucléaire.

Résumé

La technique de transplantation nucléaire a montré que des cellules à noyau totipotents ne se trouvent pas exclusivement dans l'épithélium de l'intestin larvair (GURDON et ÜHLINGER, 1966) mais sont présentes dans la population cellulair du prosencéphale d'une neurula avancée et dans l'épiderme des têtards au stad de l'éclosion.

Summary

The technic of nuclear transplantation reveals the presence of totipotentia cell nuclei not only in the larval gut epithelium (GURDON and ÜHLINGER, 1966 but also in the population of the prosencephalon of advanced neurula stag and in the epidermis of hatching tadpole.

Zusammenfassung

Die Methode der Kerntransplantation erlaubt es nachzuweisen, dass Zelle mit totipotenten Zellkernen nicht auf das larvale Darmepithelium beschränk sind, (GURDON und ÜHLINGER, 1966), sondern auch im Prosencephalon späte Neurulastadien, und in der Epidermis geschlüpfter Larven vorkommen.

RÉFÉRENCES

BANTOCK, C. R. 1961. *Chromosome elimination in Cecidomyidae*. Nature, 190: 466-467
— 1970. *Experiments on Chromosome elimination in the Gall midge Mayetiol destructor*. J. Embryol. Exp. Morphol. 24: 257-284.
BARTH, L. G. and L. J. BARTH. 1959. *Differentiation of Cells of Rana pipiens Gastrul in Unconditioned Medium*. J. Embryol. Exp. Morphol. 7: 210-222
BOVERI, Th. 1887. *Über Differenzierung der Zellkerne während der Furchung des Eie von Ascaris meg*. Anat. Anz. 2: 688-693.

BRIGGS, R. and T. J. KING. 1952. *Transplantation of living nuclei from Gastrula cells into enucleated frogs' eggs*. Proc. Acad. Sci. (U.S.). 38: 455-463.

— 1957. *Changes in the Nuclei of differentiating Endoderm Cells as Revealed by Nuclear Transplantation*. J. Morphol. 100: 269-312.

— 1960. *Nuclear Transplantation Studies on the Early Gastrula (Rana pipiens)*. Dev. Biol. 2: 252-270.

DI BERARDINO, M. A. and T. J. KING. 1967. *Development and Cellular differentiation of Neural Nuclear-Transplants of known Karyotype*. Dev. Biol. 15: 102-128.

— and N. HOFFNER. 1971. *Developmental and Chromosomal constitution of Nuclear-transplants derived from Male Germ Cells*. J. exp. Zool. 176: 61-72.

DRIESCH, H. 1891. *Entwicklungsmechanische Studien I. Der Wert der beiden ersten Furchungszellen in der Echinodermenentwichlung. Experimentelle Erzeugung von Teil-und Doppelbildungen*. Z. Zool. 53.

ELSDALE, T. R., M. FISCHBERG and S. SMITH. 1958. *A Mutation that Reduces Nucleolar Number in Xenopus laevis*. Exp. Cell Res. 14: 642-643.

— J. B. GURDON and M. FISCHBERG. 1960. *A description of the Technique for Nuclear Transplantation in Xenopus laevis*. J. Embryol. Exp. Morphol. 8: 437-444.

FISCHBERG, M., J. B. GURDON and T. R. ELSDALE. 1958. *Nuclear Transfer in Amphibia and the problem of the Potentialities of the nuclei of Differentiating Tissues*. Exp. Cell Res. Suppl. 6: 161-78.

GEYER-DUSZYNSKA, J. 1959. *Experimental research on chromosome elimination in Cecidomyidae (Diptera)*.

GURDON, J. B., T. R. ELSDALE and M. FISCHBERG. 1958. *Sexually Mature Individuals of Xenopus laevis from Transplantation of single Somatic Nuclei*. Nature, Vo. 182: 64-65.

— and V. UEHLINGER. 1966. "*Fertile*" *Intestine Nuclei*. Nature, 210: 1240-1241.

LOEB, J. 1894. *Über eine einfache Methode, zwei oder mehr zusammengewachsene Embryonen aus einem Ei hervorzubrigen*. Plügers Arch. 55: 525-530.

NIEUWKOOP, P. D. and J. FABER. 1967. *Normal Table of Xenopus laevis (Daudin)*. North Holland Publishing Comp. Amsterdam.

SMITH, L. D. 1965. *Transplantation of the Nuclei of primordial germ cells into enucleated eggs of Rana pipiens*. Proc. Acad. Sci. (U.S.) 54: 101-107.

SPEMANN, H. 1928. *Die Entwicklung seitlicher une dorso-ventraler Keimhälften bei verzögerter Kernversorgung*. J. Zool. 132: 105-134.

TOBLER, H. 1972. *The problem of Genetic Identity of different Cell Types*. In "*Nucleic Acid Hybridization and the Study of Cell Differentiation*". H. Ursprung editor. Vol. 3 of "*Results and Problems in Cell Differentiation*". Springer-Verlag Heidelberg 1972 (in press).

WEISMANN, A. 1885. *Die Kontinuität des Keimplasmas als Grundlage einer Theorie der Vererbung*. G. Fischer, Jena.
